

KARAKTERISASI SENYAWA AKTIF ANTI BAKTERI MINYAK ATSIRI BUNGA CENGKEH (*Syzygium arimaticum*)

¹Dede Sukandar, ²Nani Radiastuti dan ¹Khoeriyah

Program Studi ¹Kimia dan ²Biologi Fakultas Sains dan Teknologi
UIN Syarif Hidayatullah Jakarta, JL. Ir.H. Juanda No.95 Ciputat Indonesia
Telp. (021) 7493606, Email: d_sukandar@hotmail.com

INTISARI

Distilasi air dan pemurnian bunga cengkeh kering (*Syzygium arimaticum*) menghasilkan minyak atsiri bunga cengkeh 6,5 % (v/w), berwarna kuning kecoklatan, indeks bias (25°C) 1,52874, massa jenis (25°C) 1,0636 g/ml dan kelarutan dalam etanol 70% (1:2) jernih. Minyak cengkeh bersifat antibakteri terhadap lima bakteri uji (*B. subtilis*, *B. cereus*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* dan *E. coli*). Hasil analisa GCMS menunjukkan adanya senyawa eugenol (72,98%), kariopilena (10,40%), α -humulena (1,04%) dan eugenol asetat (15,58%). Analisa spektrofotometer UV-Vis menunjukkan adanya serapan pada λ_{maks} 207,63 nm (etanol) dan 283,76 nm (eugenol). Analisa FTIR menunjukkan adanya gugus -OH (3543,39 cm^{-1}), C-H alifatik (1605,79 - 1766,90 cm^{-1}), C=C aromatik (1433,60 - 1514,74 cm^{-1}), C-C aril (1433,60 - 1514,74 cm^{-1}) dan C-O (1268,44 cm^{-1})

Kata Kunci : Antibakteri, cengkeh (*Syzygium arimaticum*) dan minyak atsiri.

ABSTRACT

Water distillation and purification of drought clove (*Syzygium arimaticum*) interest yields clove interest essential oils 6,5 % (v/w), rust colored of chocolate, refractive index (25°C) 1,52874, specific mass (25°C) 1,0636 g/ml and condensation in ethanol 70% (1:2) limpid. Oil of clove haves the character of antibacterial to five test bacteriums (*B. subtilis*, *B. cereus*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* and *E. coli*). Result of analysis GCMS shows existence of eugenol compound (72,98%), kariophilena (10,40%), α -humulena (1,04%) and acetate eugenol (15,58%). Spectrophotometer

analysis UV-Vis existence of absorption at λ_{maks} 207,63 nm (ethanol) and 283,76 nm (eugenol). Analysis FTIR existence of bunch - OH (3543,39 cm^{-1}), aliphatic C-H (1605,79 - 1766,90 cm^{-1}), aromatic C=C (1433,60 - 1514,74 cm^{-1}), C-C aril (1433,60 - 1514,74 cm^{-1}) and C-O (1268,44 cm^{-1}).

Keyword : Antibacterial, clove (*Syzygium arimaticum*) and essential oils.

PENDAHULUAN

Bahan makanan merupakan media yang baik bagi pertumbuhan mikroorganisme. Mikroba perusak makanan dapat tumbuh pada kisaran suhu 4 - 66°C, a_w (water activity) sekitar 0,91 atau lebih, pH 4,6 - 7 dan membutuhkan oksigen. Pada kondisi tersebut mikroba perusak makanan yang berupa bakteri, khamir atau kapang dapat merusak karbohidrat, lemak dan protein sehingga makanan mengalami perubahan seperti perubahan warna, bau, rasa, tekstur dan lain-lain (Pelczar dan Chan, 1988).

Menurut Peraturan Menteri Kesehatan Nomor 722/Menkes/Per/IX/88, yang dimaksud dengan pengawet adalah bahan tambahan makanan yang mencegah atau menghambat fermentasi, pengasaman atau penguraian lain terhadap makanan yang disebabkan oleh mikroorganisme. Pengawet yang diijinkan penggunaannya dalam makanan antara lain asam benzoat, asam propionat, asam sorbat, natrium nitrit dan kalium sulfit (Fardiaz, 2002).

Efektivitas dari bahan pengawet ditentukan oleh konsentrasi, jenis bahan

pengawet, dan lingkungan bagi bahan pengawet itu ditambahkan. Umumnya semakin tinggi konsentrasi bahan pengawet yang diberikan semakin besar pula efektivitasnya (Supardi dan Sukanto, 1999).

Menurut Ardiansyah (2007) tingginya permintaan konsumen terhadap makanan agar terbebas dari penambahan senyawa kimia sintesis memunculkan berkembangnya metode pengawetan dengan pengawet alami.

Hasil penelitian Ağouğlu, et, al (2007) rempah-rempah seperti kunyit, kayu manis cengkeh, cabe merah tumbuk, fennel dan anise sebagai bahan tambahan makanan pada produk daging memiliki aktivitas antimikroba, rempah-rempah tersebut juga digunakan untuk pengobatan seperti anti radang, analgesik dan obat diare.

Minyak cengkeh dapat dipakai untuk obat kumur karena sifatnya sebagai antibakteri yang dapat menghambat tumbuhnya bakteri *Streptococcus mutans* dan *Streptococcus viridans* yang dapat menyebabkan terjadinya *plaque* gigi (Nurdjannah, 2004). Menurut Ayoola, et, al (2008) minyak atsiri cengkeh beropentasi sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterobacter cloacae*, *Salmonella paratyphi*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Escherichia coli* ATCC35218, *Citrobacter spp*, dan *Candida albicans*.

Cristina (2002) menyatakan hasil pemeriksaan fitokimia pada ekstrak methanol, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air bunga cengkeh mengandung tanin, polifenol, kuinon dan flavonoid yang diduga sebagai senyawa aktif antioksidan.

METODA PENELITIAN

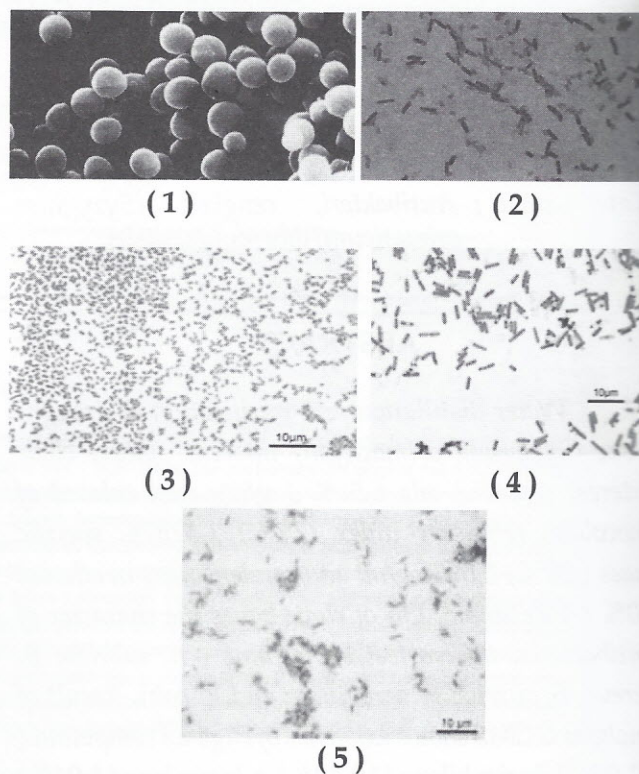
Umum. Penguapan pelarut menggunakan *rotary evaporator vakum* Buchi. Indeks bias diukur dengan refraktometer Abbe dan massa jenis dengan piknometer. Analisa kromatografi lapis tipis (TLC) menggunakan Si gel PF₂₅₄ plat Aluminium 0,5 mm (eluen n-heksana:etil asetat = 4:1). Karakterisasi menggunakan kromatografi GC-MS Merk Shimadzu QP-2010, spektrofotometer UV-VIS Merk Perkin Elmer

Bahan. Sampel cengkeh (*S. Arimaticum*)

diperoleh dari Balai Tanaman Rempah dan Obat (Balitro), Cimanggu, Bogor dan diperiksa di Herbarium Bogoriense Pusat Penelitian Biologi LIPI dan spesimennya disimpan di herbarium tersebut.



Gambar 1. Bunga Cengkeh (*S. arimaticum*)



Gambar 2. *S. aureus* (1), *B. cereus* (2), *P. aeruginosa* (3) dan *B. subtilis* (4) dan *E. coli* (5)

Bahan kimia yang digunakan meliputi etanol grade 96%, etanol Merck 70%, eter, NaOH Merck 1N, H₂SO₄ Merck 2 N, Na₂SO₄ anhidrat Merck, petroleum eter Merck, etil asetat Merck, larutan pembanding kekeruhan, Nutrient agar, Nutrient broth, Plate Count Agar dan NaCl Meck 0,9%.

Distilasi dan Penentuan Sifat Fisik. Distilasi air dilakukan berdasarkan metode SNI 01-3392-1994 dan RR SNI 2 01 - 3392 - 2004. Pemisahan minyak bunga cengkeh dari airnya menggunakan rotary evaporator dan penambahan NaOH 1 N (1:2) hingga terbentuk dua lapisan. Lapisan bawah diasamkan dengan H₂SO₄ 2 N (1:2), didiamkan di penangas es dan disaring (Wahyuningsih, et al, 2002). Penentuan warna dilakukan dengan pengamatan visual mengacu pada ketentuan EOA (Essential oil Association) dan penentuan indeks bias, kadar air serta bobot jenis didasarkan pada SNI 06 - 1312 tahun 1998.

Uji antibakteri. Pengujian aktivitas minyak atsiri cengkeh terhadap pertumbuhan bakteri dilakukan dengan metode difusi agar dan media tumbuh Nutrient Broth dan Nutrient Agar. serta Plate Count Agar (PCA) untuk perhitungan jumlah koloni total.

Analisa Statistik. Pengujian hipotesis menggunakan rancangan acak lengkap dengan uji F untuk mengetahui pengaruh faktor perlakuan terhadap keragaman atau variasi data hasil percobaan.

Analisa GC-MS. Analisa GC-MS menggunakan kolom Rtx® - 1MS made in USA crossbond® 100% dimethyl polysiloxane (30 m x 0,25 mm/D, ketebalan film 0,25 µm), gas pembawa helium, split rasio 1:300, temperatur oven (70°C), tekanan 76.1kPa, suhu oven (70°C - 250°C), kecepatan 5°C/menit, suhu detektor (250°C), suhu injektor (230°C). dan kecepatan injeksi 0,5 cm/menit.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Minyak atsiri bunga cengkeh yang sebanyak 26 ml, kadar 6,5%, berwarna kuning kecoklatan dan aroma yang khas, Pemurnian minyak cengkeh dilakukan menggunakan NaOH dan H₂SO₄. Pada tahap ini garam natrium eugenolat yang terbentuk diubah kembali menjadi eugenol dan Na₂SO₄. Sisa air yang terikat pada minyak cengkeh dihilangkan dengan penambahan Na₂SO₄ anhidrat (Handayani, 2001). Minyak atsiri bunga cengkeh hasil distilasi memiliki sifat fisik dan kimia antara lain tertera pada Tabel 1.

Tabel 1. Sifat fisik dan kimia minyak cengkeh hasil distilasi

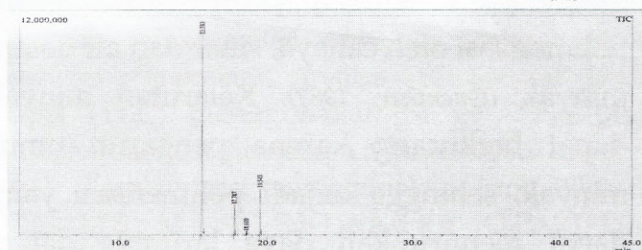
Sifat fisik dan kimia	Keterangan
Warna	Kuning kecoklatan
Indeks bias (25°C)	1,52874
Massa Jenis 25°C)	1,0636 g/ml
Kelarutan dalam etanol 70% (1:2)	Jernih
Eugenol total	72,8%

Kecuali warna, sifat fisik dan kimia minyak atsiri bunga cengkeh sama dengan mutu minyak bunga cengkeh SNI 06 - 4267 - 1996 (bobot jenis (25°C) 1,030 - 1,060 g/ml), indeks bias (25°) 1,527 - 1,535 dan kelarutan dalam etanol (70%) 1:2 jernih, warna kuning kecoklatan pada minyak cengkeh disebabkan adanya kandungan senyawa terpen yang sangat peka terhadap proses oksidasi dan polimerisasi oleh cahaya, sinar dan air dalam minyak (Guenther, 1987). Kelarutan minyak dapat berkurang karena pengaruh umur minyak, sehingga terjadi polimerisasi yang dapat menurunkan daya larutnya dalam alkohol (Ketaren, 1980).

Berdasarkan hasil analisa statistika anova satu-arah menunjukkan bahwa F-hitung masing-masing konsentrasi minyak cengkeh terhadap kelima bakteri lebih besar dari pada F-tabel 0,01 dan 0,05. Artinya konsentrasi minyak cengkeh terhadap perlakuan yang diberikan terdapat perbedaan yang nyata. Hal ini menyebabkan ada hubungan antara variasi konsentrasi minyak cengkeh dengan diameter zona hambat bakteri *B. subtilis*, *B. cereus*, *E.coli*, *P. aeruginosa* dan *S. aureus*. Minyak atsiri bunga cengkeh menghambat pertumbuhan bakteri *B. subtilis*, *B. cereus*, *E.coli*, *P. aeruginosa* dan *S. aureus*. Minyak atsiri bunga cengkeh lebih aktif terhadap *B. subtilis* dan *B. cereus*, sehingga berpotensi sebagai antibakteri. Aktivitas antibakteri bunga cengkeh lebih rendah dibandingkan dengan amoksisilin karena persentase kandungan senyawa aktif minyak cengkeh rendah.

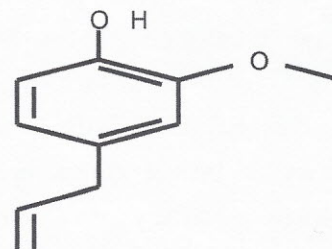
Hasil penelitian *Suliyanto* (2007) minyak cengkeh yang diperoleh dari distilasi uap dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E.coli*, *S. aureus*, *B. subtilis*, *Candida albicans*, *Aspergillus niger* dan *Rhizopus*, hasil tersebut menunjukkan bahwa minyak cengkeh berpotensi sebagai antimikroba.

Hasil analisa kromatogram GC menunjukkan adanya 4 puncak yaitu adanya senyawa eugenol, karyophyllene, α -humulene dan eugenol asetat (Gambar 3).



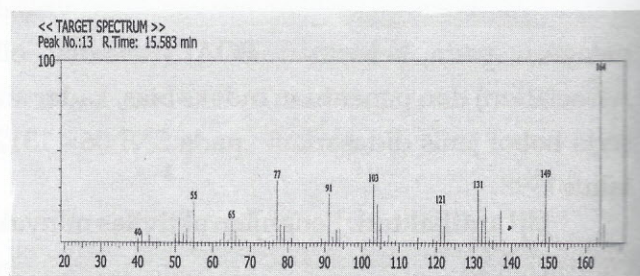
Gambar 3. Kromatogram GC Minyak Atsiri Bunga Cengkeh.

Berdasarkan data kromatogram di atas, senyawa dengan waktu retensi (R_t) 15,583 (persen area 72,98%) memiliki kemiripan 98% dengan senyawa eugenol (1) dengan massa molekul relatif (m/z) 164 dan rumus molekul $C_{10}H_{12}O_2$.



(1)

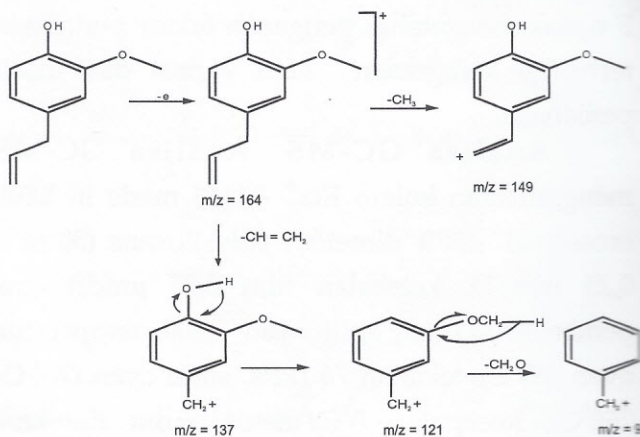
Hasil analisa MS tersebut dapat dilihat pada Gambar 4



(1)

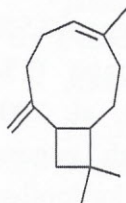
Gambar 4. Spektrum MS Eugenol.

Berdasarkan data spektrometer massa, maka pola fragmentasi eugenol adalah sebagai berikut:

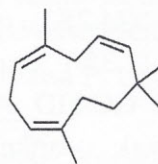


Gambar 5. Pola Fragmentasi Eugenol

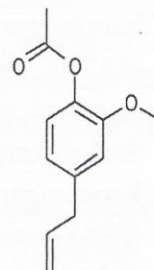
Senyawa pada Rt 17,787 (persen area 10,40%) memiliki kemiripan 97% dengan senyawa kariopilena (2) dengan massa molekul relatif (m/z) 204 dan rumus molekul $C_{15}H_{24}$. Senyawa dengan Rt 18,600 (persen area 1,04%) memiliki kemiripan 95% dengan senyawa α -humulena (3) dengan massa molekul relatif (m/z) 204 dan rumus molekul $C_{15}H_{24}$. Senyawa dengan Rt 19,543 (persen area 15,58%) dan kemiripan 98% dengan senyawa eugenol asetat (4) memiliki massa molekul relatif eugenol asetat adalah 206 dengan rumus molekul $C_{12}H_{14}O_3$.



(2)

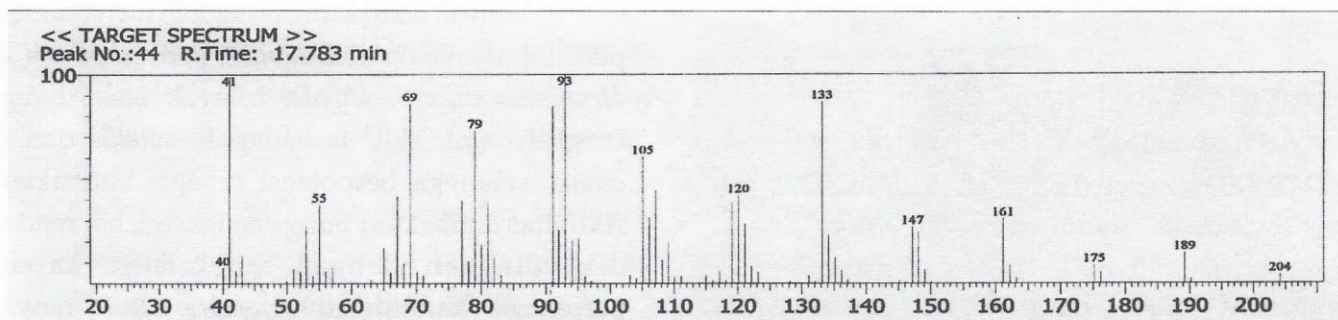


(3)

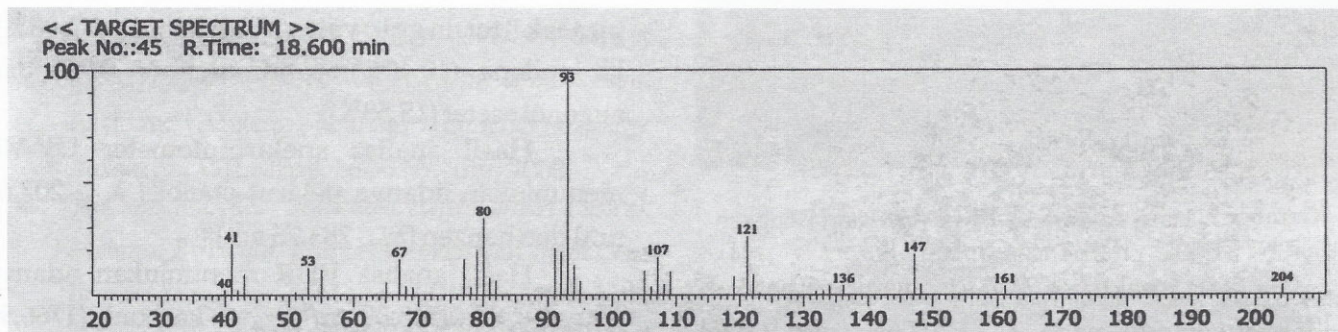


(4)

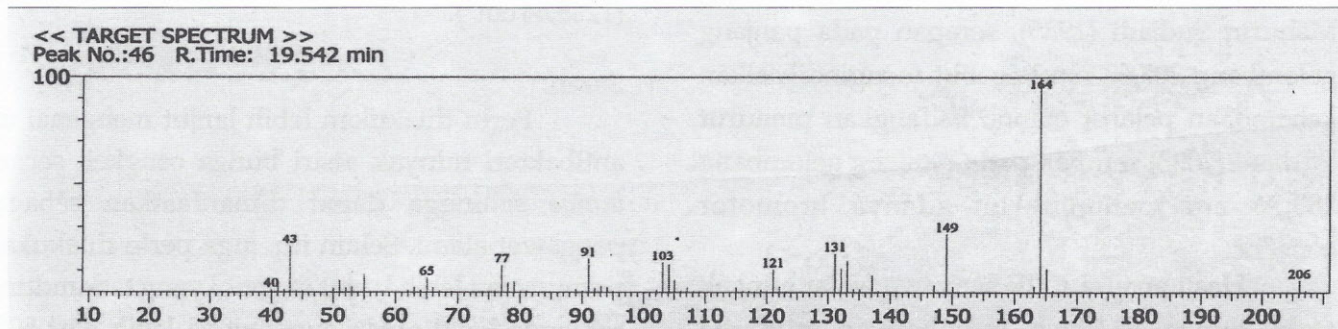
Spektrogram MS ketiga senyawa tersebut dapat dilihat pada Gambar 6.



(2)



(3)

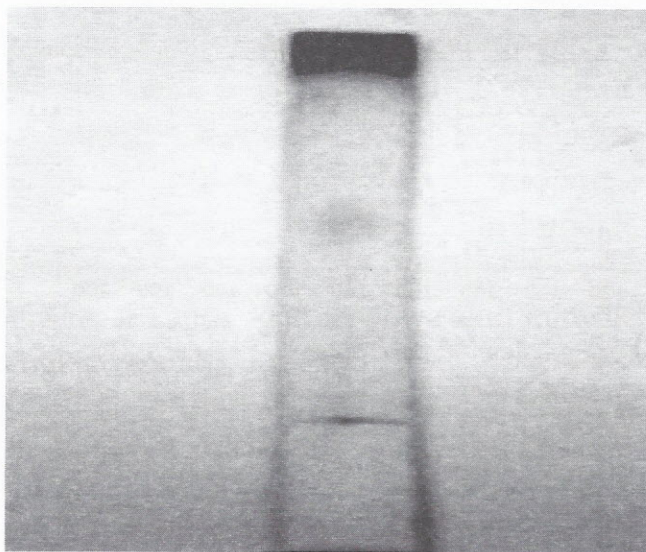


(4)

Gambar 6. Spektrogram MS kariopilena (2), α -humulena(3) dan eugenol asetat (4)

Hasil GC-FID Öztürk dan Özbek (2005) kandungan minyak cengkeh adalah β -kariopilena (44,7%), eugenol (44,2%), α -humulena (3,5%), eugenol asetat (1,3%) dan α -copaen (1%). Sedangkan, hasil GC-FID Alma, et, al (2007) kandungan minyak cengkeh adalah eugenol (87%), eugenol asetat (8,01%) dan β -kariopilena (3,56%).

Berdasarkan analisa KLT minyak atsiri bunga cengkeh menunjukkan 3 noda dengan nilai Rf 0,3 cm (biru muda), Rf 1,6 cm (biru tua) dan Rf 4,7 cm (merah muda). Hasil analisa KLT dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Hasil Analisa KLT Minyak Atsiri Cengkeh

Data spektrum UV-Vis memperlihatkan adanya serapan pada λ_{maks} 207,63 nm (-OH pelarut) dan 283,76 nm (kromofor benzen). Menurut Sudjadi (1985), serapan pada panjang gelombang 207,63 nm tersebut mengindikasikan keberadaan pelarut etanol. Sedangkan menurut Widiani (2005) serapan pada panjang gelombang 283,76 nm menunjukkan adanya kromofor benzene.

Hasil analisa FTIR senyawa isolat minyak atsiri bunga cengkeh memberikan pita-pita serapan pada bilangan gelombang (cm^{-1}): 3543,39 cm^{-1} (-OH bebas), 2925,54 cm^{-1} (C-H alifatik),

1766,90 cm^{-1} (C=O karbonil), 1433,60 – 1514,74 cm^{-1} (C-C aril). Menurut (Fessenden, 1986) gugus C-C aril menimbulkan deretan empat peak pada bilangan gelombang 1450-1600 cm^{-1} dan 1268,44 cm^{-1} (C-O).

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan.

Minyak atsiri bunga cengkeh berwarna kuning kecoklatan, aroma khas cengkeh, indeks bias (25°C) 1,52874, massa jenis (25°C) 1,0636 g/ml, kandungan minyak atsiri 6,5% dan kelarutan dalam etanol 70% 1 – 2 jernih.

Minyak atsiri bunga cengkeh menghambat pertumbuhan bakteri *B. subtilis*, *B. cereus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* dan *S. aureus*. Minyak atsiri bunga cengkeh lebih aktif terhadap *B. subtilis* dan *B. cereus*, sehingga berpotensi sebagai antibakteri. Aktivitas antibakteri bunga cengkeh lebih rendah dibandingkan dengan amoksisilin karena persentase kandungan senyawa aktif minyak cengkeh rendah.

Hasil analisa GC-MS menunjukan 4 puncak tertinggi yaitu eugenol (72,98%), kariopilena (10,40%), α -humulena (1,04%) dan eugenolasetat (15,58%).

Hasil analisa spektrofotometer UV-Vis menunjukan adanya pelarut etanol (λ_{maks} 207,63 nm) dan benzen (λ_{maks} 283,76 nm).

Hasil analisa FTIR menunjukan adanya gugus -OH (3543,39 cm^{-1}), C=O karbonil (1766,90 cm^{-1}), C-C aril (1433,60-1514,74 cm^{-1}) dan C-O (1268,44 cm^{-1}).

Saran.

Perlu dilakukan lebih lanjut mengenai uji antibakteri minyak atsiri bunga cengkeh secara *in vivo* sehingga dapat dimanfaatkan sebagai pengawet alami. Selain itu, juga perlu dilakukan permurnian lebih lanjut eugenol yang terkandung sehingga kandungan eugenolnya lebih dari 80% serta karaktersasi menggunakan spektroskopi NMR.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada Kepala Pusat Laboratorium Terpadu UIN Syarif Hidayatullah Jakarta dan Laboratorium Balai Tanaman Obat dan Aromatik- Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (BALITRO) Kampus Penelitian Cimanggu, Bogor, Pusat Laboratorium Forensik POLRI Kebayoran Baru Jakarta Selatan, dan Laboratorium Mikrobiologi Universitas Indonesia.

DAFTAR PUSTAKA

1. Ağaoğlu, Sema, Hursel Dosbil dan Suleyman. 2006. *Antimicrobial Activity of Some Spices Used in Meat Industry*. Turkey: Bull Vet Inst Pulawy 51, 53-57, 2007
2. Ardiansyah. 2007. *Antimikroba dari tumbuhan (bagian pertama)*. www.beritaiptek.com. Diakses Rabu, 16 Juli 2008. 05:15:23.
3. Ayoola, Lawore, Adelowotan, Aibiniu, Adenipenikun, Caker dan Odugbemi. 2008. *Chemical Analysis and Antimicrobial Activity of the Essential Oil of Syzygium aromaticum*. African: African Journal of Microbiology Research. Vol.(2) pp.162-166, July, 2008.
4. Cristina. 2002. *Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Biji Pala, Bunga Cengkeh dan Buah Cabe Jawa dengan Metode NBT (Nitroblue Tetrazolium)*. lib.farmasi.unpad.ac.id.
5. Fardiaz, Dedi. 2002. *Panduan Pengolahan Pangan yang Baik bagi Industri Rumah Tangga*. Jakar: Badan Pengawas Obat dan Makanan.
6. Fessenden dan Fessenden. Diterjemahkan oleh Aloysius Hadyana P. 1982. *Kimia Organik* jilid 2. Jakarta: Erlangga.
7. Guenther, Ernest. Diterjemahkan oleh Ketaren. 1987. *Minyak Atsiri* jilid I. Jakarta: UI-PRESS.
8. Handayani, Wuryanti. 2001. *Sintesis Polieugenol Dengan Katalis Asam Sulfat*. Jember: Jurnal Ilmu Dasar, Vol.2 No.2, 2001: 103-110.
9. Ketaren. 1980. *Analisa Sifat Fisiko-kimia Minyak Atsiri*. Bogor: IPB.
10. Nurdjannah, Nanah. 2004. *Diversifikasi Penggunaan Cengkeh*. Bogor: Perspektif-Vol.3 No.2, Desember 2004: 61-70.
11. Pelczar, Michael. dan Chan. 1988. Diterjemahkan oleh Ratna Sri Hadioetomo, dkk. *Dasar-dasar Mikrobiologi* jilid II. Jakarta: UI-PRESS.
12. Sudjadi. 1985. *Penentuan Struktur Senyawa Organik*. Jakarta: Ghalia Indonesia
13. Supardi dan Sukanto. 1999. *Mikrobiologi dalam Pengelolaan dan Keamanan Pangan*. Bandung: ALUMNI.
14. Wahyuningsih, Tutik Dwi. 2002. *Sintesis Senyawa Tabir Surya 3,4-dimetoksi Isoamil Sinamat dari Bahan Dasar Minyak Cengkeh dan Minyak Fusel*. Yogyakarta: Indonesian Journal of Chemistry, 2002, 2(1), 55-63.
15. Widiani, Triana Atika. 2005. *Pengaruh Iradiasi Gamma Terhadap Sifat Fisika-Kimia Eugenol*. Jakarta: Universitas Pancasila.